

Nilai Klinis Uji ELISA Makro pada Penyakit Tuberkulosis Paru

Dr. dr. Indro Handojo*, dr. Anik Widijanti**

* *Laboratorium/Instalasi Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
RSUD Dr. Sutomo, Surabaya*

** *Instalasi Patologi Klinik RSUD Dr. Syaiful Anwar, Malang*

PENDAHULUAN

Dari hasil survei terdahulu, penyakit tuberkulosis (TB) sampai dewasa ini masih merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting di Indonesia^(1,2,3). Pencarian kasus yang diikuti dengan pengobatan adekuat adalah unsur utama dalam pemberantasan penyakit TB, yang membutuhkan sarana diagnostik yang andal⁽⁴⁾.

Handojo⁽⁴⁾ melaporkan hasil yang amat baik dari penggunaan uji Peroksidase-Antiperoksidase (PAP-TB) pada penyakit tuberkulosis paru. Sayangnya uji serologik ini hanya menentukan kadar IgG spesifik terhadap hasil TB secara semikuantitatif. Dari hasil penelitian Kardjito⁽⁵⁾ yang menggunakan uji ELISA mikro pada penyakit TB paru, didapatkan sensitivitas sebesar 62% dan spesifisitas sebesar 74%. Cara tersebut bersifat kuantitatif (*absorbance unit*), cukup praktis (masih butuh mikro-ELISA reader) namun membutuhkan jumlah sampel yang cukup banyak (40) untuk tiap seri pemeriksaan. Dengan demikian tes ini lebih tepat digunakan untuk survei epidemiologis daripada untuk keperluan pemeriksaan klinis.

Pemeriksaan kuantitatif kadar IgG spesifik terhadap TB dengan cara *radioimmunoassay* (RIA) memberikan sensitivitas yang lebih tinggi daripada uji ELISA tetapi membutuhkan peralatan yang canggih dan menggunakan bahan radioisotop dengan waktu paruh yang relatif pendek⁽⁵⁾. Uji ELISA makro walaupun mempunyai prinsip yang sama dengan uji ELISA mikro, namun lebih praktis untuk dipakai di klinik sebab untuk satu seri pemeriksaan tidak dibutuhkan jumlah sampel tertentu. Di samping itu dengan penggunaan permukaan tabung yang lebih luas diharapkan dapat menjerang lebih banyak antibodi dan dengan demikian dapat meningkatkan sensitivitasnya.

Permasalahan ini mendorong pelaksanaan penelitian ini dengan tujuan untuk menentukan nilai diagnostik dari uji ELISA makro pada penyakit tuberkulosis paru, melalui penentuan IgG

spesifik terhadap hasil TB secara kuantitatif (dalam *absorbance unit*).

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian klinis ini dilakukan terhadap 59 penderita TB paru aktif dewasa (lebih dari 15 tahun) dengan hasil tahan asam (BTA) dahak positif (Ziehl Neelsen); 35 penderita dengan biakan dahak dan uji PAP-TB positif dan 24 penderita dengan uji PAP-TB positif dan biakan dahak negatif, yang datang berobat di Balai Pemberantasan Penyakit Paru di Malang.

Diagnosis TB paru ditegakkan atas dasar kriteria berikut :

- 1) pada x-foto paru ditemukan adanya kelainan yang relevan untuk tuberkulosis yang aktif,
- 2) BTA dahak positif dan
- 3) biakan dahak atau/dan uji PAP-TB yang positif.

Kriteria lain yang harus dipenuhi untuk penerimaan kasus TB dalam penelitian ini ialah :

- a) belum pernah mendapatkan pengobatan anti-TB,
- b) tidak mendapatkan pengobatan kortikosteroid atau obat imunosupresif yang lain,
- c) keadaan umum baik dan tidak menderita penyakit lain.

Untuk menentukan batas atas nilai rujukan uji ELISA dipakai 34 prang perawat sehat yang merawat penderita TB paru, sedangkan untuk penentuan spesifisitas dari tes dipakai 36 orang penderita penyakit lain yang bukan TB (kusta, artritis rematoid dengan faktor rematoid positif, ibu hamil dan penderita penyakit paru lain yang non-TB).

Cara ELISA makro yang dipakai dalam penelitian ini pada prinsipnya sama dengan cara ELISA mikro yang dipakai oleh Kardjito⁽⁵⁾. Perbedaannya hanya terletak pada volume reagen yang 3 kali lebih besar dan tabung polistiren yang dipakai pada ELISA makro (bukan sumuran polistiren seperti pada ELISA mikro). Secara singkat cara ELISA makro tersebut adalah se-

bagai berikut :

Ke dalam tabung polistiren dimasukkan 0,6 ml antigen sitoplasmik dari *M. tuberculosis var bovis BCG (ultrasonicated)* dengan pengenceran 1 : 100 dan diinkubasikan dalam kotak lembab pada 4°C selama semalam. Setelah waktu inkubasi, tabung dicuci dengan larutan dapar fosfat salin-tween (PBS-tween) sebanyak 3 kali.

Dalam tahap berikutnya 0,6 ml serum (pengenceran 1: 500) dimasukkan ke dalam tabung dan diinkubasikan selama 2 jam dalam suhu ruang, lalu dilakukan pencucian seperti tersebut di atas. Dalam tahap selanjutnya, 0,6 ml konjugat (anti-human IgG berlabel enzim) dengan pengenceran 1 : 1000, dimasukkan ke dalam tabung polistiren dan diinkubasikan selama semalam pada 4°C. Setelah inkubasi, sisa konjugat dibuang dan dilakukan pencucian seperti tersebut di atas. Selanjutnya dimasukkan 0,6 ml substrat (H₂O₂ 0,03% dan ABTS) dan diinkubasikan selama 30 menit lalu ditambahkan 0,150 ml NaF 1 N sebagai larutan penghenti reaksi. Pembacaan dilakukan dengan spektrofotometer pada lambda 420 nm.

Dalam tiap seri pemeriksaan dipakai serum kontrol yang sama untuk menentukan faktor koreksi⁽⁶⁾.

Untuk menentukan batas atas nilai rujukan dari uji ELISA mikro dan makro dipakai rumus $mean + 2 SD$ ⁽⁷⁾. Untuk menentukan sensitivitas, spesifisitas, efisiensi diagnostik, nilai ramal negatif dan nilai ramal positif dari uji PAP-TB dipakai rumus dari Galen⁽⁸⁾, sedangkan untuk membandingkan karakteristik dari uji ELISA makro dan mikro dipakai uji statistik Mc Nemar⁽⁷⁾.

HASIL

Dari hasil penelitian terhadap 34 perawat sehat yang merawat penderita TB paru, didapatkan batas atas nilai rujukan untuk uji ELISA mikro 0,199 dan untuk uji ELISA makro 0,574. Kadar IgG spesifik yang dideteksi oleh uji ELISA makro pada semua perawat sehat tersebut ($x = 0,300$) lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,001$) daripada yang terdeteksi oleh uji ELISA mikro ($x = 0,109$).

Dengan demikian, detektabilitas dari uji ELISA makro secara bermakna lebih tinggi daripada detektabilitas uji ELISA mikro.

Koefisien variasi dalam satu seri pemeriksaan (*within run*) dari uji ELISA makro (13,02%) sedikit lebih rendah daripada uji ELISA makro (16,11%), namun koefisien variasi antar seri pemeriksaan (*between run*) dari uji ELISA mikro (40,40%) jauh lebih tinggi daripada uji ELISA makro (28,77%).

Dan 61 penderita tersangka TB aktif dengan BTA dahak positif yang terjaring dalam penelitian ini, 35 penderita menunjukkan hasil biakan dahak dan uji PAP-TB yang positif. Dari 26 penderita yang menunjukkan hasil biakan dahak yang negatif, pada 25 penderita dilakukan uji PAP-TB. Hasil yang positif didapatkan pada 24 dari 25 penderita tersebut. Jadi dari 60 penderita tersangka TB paru aktif dengan BTA dahak positif, 59 penderita menunjukkan hasil uji PAP-TB positif (98,3%) dan 35 di antaranya, biakan dahaknya juga positif. Dengan demikian hanya 59 penderita yang menurut kriteria penelitian ini dapat

dikategorikan sebagai penderita TB paru aktif.

Dari 59 penderita tersebut di atas, 35 penderita (59,32%) menunjukkan kadar IgG spesifik di atas batas atas nilai rujukan dengan uji ELISA mikro dan 50 penderita (84,75%) dengan uji ELISA makro. Dengan demikian sensitivitas dari uji ELISA makro adalah 84,75% dan untuk uji ELISA mikro 59,32%. Dengan uji statistik Mc Nemar perbedaan tersebut amat bermakna ($p < 0,005$).

Dari 36 penderita penyakit lain atau ibu hamil yang bukan TB, 31 penderita (86,11%) menunjukkan hasil uji ELISA mikro negatif (di bawah batas atas nilai rujukan) dan 30 penderita (83,33%) menunjukkan hasil uji ELISA makro yang negatif. Jadi spesifisitas uji ELISA makro adalah 83,33% dan uji ELISA mikro 86,11%. Secara statistis perbedaan tersebut tidak bermakna ($p > 0,05$). Dengan demikian efisiensi diagnostik (kebenaran diagnostik) dari uji ELISA makro adalah 84,21% sedangkan dari ELISA mikro adalah 69,47%. Secara statistis perbedaan tersebut amat bermakna ($p < 0,005$).

Nilai ramal positif diagnostik dari uji ELISA makro (89,28%) hampir tidak berbeda dengan nilai ramal positif dari uji ELISA mikro (87,5%). Sebaliknya nilai ramal negatif dari uji ELISA makro yaitu 76,82% jauh lebih tinggi daripada nilai ramal negatif uji ELISA mikro (56,36%).

PEMBAHASAN

Dalam dunia ilmu Kedokteran Laboratorium, akseptabilitas suatu uji laboratorik perlu ditinjau dari beberapa segi :

1) Validitas

1.1 Validitas interna (laboratoris)

1.2 Validitas eksterna (klinis).

2) Kepraktisan

3) Biaya pemeriksaan

Validitas interna atau laboratoris dari suatu tes adalah validitas dari tes tersebut yang diuji di laboratorium dan meliputi faktor-faktor :

a) detektabilitas

b) presisi atau reproduisibilitas dan

c) akurasi dari tes.

Detektabilitas uji ELISA-TB

Seperti dikemukakan dalam hasil penelitian ini, detektabilitas dari uji ELISA makro secara bermakna lebih tinggi daripada uji ELISA mikro ($p < 0,001$).

Makin besar detektabilitas dari suatu uji laboratorium, makin besar pula kemampuan dari tes tersebut untuk dapat memantau perubahan-perubahan kecil yang mungkin terjadi pada kadar IgG spesifik yang ditentukannya⁽⁹⁾. Hal ini dinilai menguntungkan dari segi kegunaan klinis, teristimewa untuk keperluan pemantauan hasil pengobatan penyakit TB.

Reproduisibilitas uji ELISA-TB

Besarnya koefisien variasi antar seri pemeriksaan, baik dari uji ELISA mikro maupun ELISA makro, mengurangi nilai dari kedua tes tersebut dalam pemantauan hasil pengobatan dari penyakit TB. Perbedaan yang amat mencolok dari koefisien

variasi antar seri pemeriksaan uji ELISA mikro dan uji ELISA makro mungkin disebabkan oleh perbedaan volume reagensia dari kedua tes tersebut. Perubahan kecil volume reagensia atau serum akibat pemipetan yang kurang akurat akan memberikan dampak yang relatif lebih besar pada uji ELISA mikro dibandingkan dengan uji ELISA makro.

Akurasi uji ELISA-TB

Untuk menentukan akurasi dari suatu uji laboratorik biasanya dipakai uji *recovery* dengan menggunakan *accuracy control sample* yaitu serum atau larutan yang mengandung bahan yang sama dengan bahan yang akan ditentukan dalam kadar tertentu yang telah diketahui. Dalam penelitian ini tidak dilakukan uji *recovery*, sebab kami tidak berhasil untuk mendapatkan *accuracy control sample*.

Validitas eksterna atau klinis dari suatu tes adalah bagian dari validitas tes yang diuji di klinik dan meliputi faktor-faktor sebagai berikut :

- a) sensitivitas diagnostik,
- b) spesifisitas diagnostik,
- c) efisiensi diagnostik (kebenaran diagnostik),
- d) nilai ramal positif diagnostik dan
- e) nilai ramal negatif.

Dalam penelitian ini hanya 35 penderita di antara 61 penderita dengan BTA dahak positif dan kelainan radiografis yang relevan untuk TB yang menunjukkan hasil biakan dahak positif serta uji PAP-TB yang juga positif. Pada 26 penderita yang menunjukkan hasil biakan dahak yang negatif, 24 di antara 25 penderita yang dilakukan uji PAP-TB menunjukkan hasil tes yang positif. Dengan demikian 24 penderita dengan BTA dahak positif, kelainan radiografis paru yang relevan untuk TB dan uji PAP-TB yang positif namun biakan dahak negatif, dianggap menderita TB paru aktif. Penyebab dari hasil biakan dahak yang negatif pada 24 penderita tersebut belum diketahui dengan tepat. Kemungkinan besar hasil TB yang diekskresikan ke dalam dahak penderita adalah kuman yang man atau kuman menjadi mati dalam perjalanan dari tempat pengambilan sampel ke gedung laboratorium yang mengerjakan biakan dahak. Kemungkinan lain ialah keadaan media perbenihan yang dipakai untuk biakan dahak dalam penelitian ini, kurang baik.

Sensitivitas uji ELISA-TB

Sensitivitas dari uji ELISA makro (84,75%) yang diperoleh dalam penelitian ini, lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,005$) bila dibandingkan dengan sensitivitas dari uji ELISA mikro (59,32%). Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh perbedaan luas fase padat, volume reagensia dan volume serum antara kedua uji ELISA tersebut. Hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Schuur dan Van Weeman⁽¹⁰⁾ yang mengatakan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi sensitivitas dari suatu uji serologik adalah besarnya molekul antigen yang dipakai. Dengan lebih luasnya permukaan kontak antara antigen dan serum atau reagensia pada uji ELISA makro, bertambah besar pula kemungkinan antigen untuk mengikat antibodi yang sesuai pada uji ELISA makro.

Adimasta⁽¹¹⁾ dan Handoyo⁽¹⁾ membuktikan bahwa polimeri-

sasi antigen dalam suasana asam yang merupakan ikatan dari molekul-molekul antigen yang kecil menjadi polimer yang besar dengan pemaparan determinan antigen pada permukaannya sehingga dengan demikian memperbesar permukaan kontak antara antigen dan antibodinya, dapat meningkatkan sensitivitas dari tes secara bermakna.

Spesifisitas uji ELISA-TB

Spesifisitas dari uji ELISA makro (83,33%) hampir tak berbeda ($p > 0,05$) dengan uji ELISA mikro (86,11%). Spesifisitas dari suatu uji serologik dipengaruhi oleh kemurnian antigen-nya, profil spesifisitas dari antisernya dan derajat pengenalan antara konjugat dan lawan imunnya⁽¹⁰⁾. Oleh karena ketiga faktor yang mempengaruhi spesifisitas dari suatu tes adalah sama pada uji ELISA makro maupun uji ELISA mikro, maka spesifisitasnya juga tak berbeda bermakna.

Bila dibandingkan dengan spesifisitas dari uji aglutinasi (74%), spesifisitas dari uji ELISA makro maupun mikro masih sedikit lebih tinggi⁽¹²⁾. Akan tetapi bila dibandingkan dengan uji imunofluoresens (96%)⁽¹³⁾ dan uji PAP-TB (94,17%)⁽⁴⁾, maka spesifisitas uji ELISA masih lebih rendah. Pada uji ELISA yang menggunakan *mycobacterium antigen S* didapatkan spesifisitas sebesar 95,5% pada daerah dengan prevalensi TB rendah dan sebesar 79,9% pada daerah dengan prevalensi TB tinggi⁽¹⁴⁾. Spesifisitas dari uji ELISA-TB di Indonesia di mana prevalensi BTA positif tergolong sedang^(2,3) diperkirakan terletak di antara kedua angka tersebut.

Walaupun spesifisitas dari kedua uji ELISA-TB tersebut secara keseluruhan tidak berbeda bermakna, namun bila disimak spesifisitasnya pada masing-masing golongan penyakit yang diteliti, terdapat beberapa perbedaan yang mencolok. Menarik untuk diungkapkan bahwa pada uji ELISA mikro dalam penelitian ini, hasil positif semu terutama didapatkan pada kelompok penderita kusta tipe L (50%) yang disusul oleh kelompok penderita artritis rematoid dengan faktor rematoid yang positif (9,1%). Sebaliknya pada uji ELISA makro, hasil positif semu terutama didapatkan pada kelompok penderita artritis rematoid dengan faktor rematoid yang positif (45,5%) yang disusul oleh kelompok ibu hamil non-TB (11,1%) sedangkan pada penderita kusta tipe L, tak seorangpun (0%) yang menunjukkan hasil uji ELISA makro yang positif.

Perbedaan hasil pada kelompok penderita kusta tipe L tersebut belum diketahui dengan tepat. Walaupun kelompok penderita kusta yang dipakai dalam penelitian ini sudah pernah mendapatkan pengobatan sebelumnya, namun pada pengobatan kusta yang berhasil, hanya antibodi kelas IgM yang menurun secara bermakna, sedangkan IgG dan IgA kadarnya tak berubah bermakna⁽¹⁵⁾. Pada kelompok penderita artritis rematoid dengan faktor rematoid yang positif, memang terdapat aktivasi poliklonal dari limfosit B, sehingga rangsangan ringan oleh antigen TB yang pada orang normal hanya menyebabkan pembentukan IgG spesifik sampai batas atas nilai rujukan, pada penderita dengan faktor rematoid yang positif menyebabkan pembentukan IgG spesifik sampai di atas batas atas nilai rujukannya.

Hasil positif semu dengan uji ELISA makro ditemukan pada

seorang ibu hamil (11,1%); ternyata pada pemeriksaan radio-grafis sesudah melahirkan, didapatkan lesi minimal di parunya dan memberikan hasil uji PAP-TB yang juga positif.

Pada kelompok penderita penyakit paru lain, baik uji ELISA makro maupun uji ELISA mikro tak memberikan hasil positif semu.

Efisiensi diagnostik uji ELISA-TB

Efisiensi adalah gabungan dari sensitivitas dan spesifisitas dari suatu uji laboratorik. Efisiensi uji ELISA makro (84,21%) dalam penelitian ini, secara bermakna lebih tinggi daripada efisiensi uji ELISA mikro (69,47%) dan hampir sama dengan efisiensi uji imunoperoxidase tak langsung (IIPO; 82,35%). Walaupun nilai ramal positif dari kedua uji ELISA ini hampir tak berbeda, nilai ramal negatif dari uji ELISA makro jauh lebih tinggi daripada uji ELISA mikro.

Dan hasil analisis data yang diperoleh dan pembahasan yang dilakukan dalam penelitian ini, dapat ditarik kesimpulan bahwa uji ELISA makro-TB merupakan sarana diagnostik yang cukup andal untuk TB paru dengan sensitivitas diagnostik (84,75%) yang lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,005$) daripada uji ELISA mikro-TB (59,32%), dengan spesifisitas diagnostik (83,33%) yang hampir tak berbeda ($p > 0,05$) daripada uji ELISA mikro (86,11%) dan dengan efisiensi diagnostik (84,21%) yang lebih besar secara bermakna ($p < 0,005$) daripada uji ELISA mikro (69,47%). Walaupun demikian, penulis menekankan bahwa evaluasi hasil uji ELISA makro-TB perlu dilakukan dengan hati-hati, terutama bila menyangkut penderita dengan penyakit kusta tipe L dan penderita dengan artritis rematoid atau dengan faktor rematoid yang positif.

RINGKASAN

Penelitian klinis ini dilakukan terhadap 59 penderita TB paru aktif dewasa (lebih dan 15 tahun) dengan BTAdahak positif (35 dengan biakan dahak dan uji PAP-TB positif dan 24 dengan biakan dahak negatif dan uji PAP-TB positif), 34 perawat sehat dan 36 penderita penyakit lain bukan TB yang datang berobat ke Balai Pemberantasan Penyakit Paru (BP4) di Malang atau pusat kesehatan yang lain. Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui nilai klinis dari uji ELISA makro-TB pada penyakit TB paru.

Pada sera dari semua penderita dan perawat tersebut di atas, dilakukan uji ELISA makro dan uji ELISA mikro, untuk menentukan kadar IgG spesifik terhadap *M. tuberculosis* dengan menggunakan sitoplasma dari *ultrasonicated M. tuberculosis var bovis BCG* sebagai antigen dan dengan metoda dari Kardjito sebagai cara pemeriksaan uji ELISA.

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa uji ELISA makro memiliki sensitivitas diagnostik (84,75%) yang lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,005$) daripada uji ELISA mikro (59,32%) spesifisitas (83,33%) yang tak berbeda bermakna ($p > 0,05$) daripada uji ELISA mikro (86,11%), efisiensi diagnostik (84,21%) yang lebih tinggi secara bermakna ($p < 0,05$) daripada uji ELISA mikro (69,47%), nilai ramal positif diagnostik (89,28%) yang hampir tak berbeda dengan uji ELISA mikro (87,5%) dan nilai ramal negatif (76,92%) yang jauh lebih tinggi daripada uji ELISA mikro (56,36%).

Dari hasil analisis data yang diperoleh dan pembahasan yang dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa uji ELISA makro-TB merupakan sarana diagnostik yang cukup andal untuk diagnosis tuberkulosis paru, namun interpretasi hasilnya pada penderita-penderita dengan penyakit kusta tipe L dan penderita-penderita dengan faktor rematoid positif perlu dilakukan dengan hati-hati.

KEPUSTAKAAN

1. WHO Regional Office for South-East Asia. Tuberculosis control in Indonesia 1952 – 1965. Report on WHO Project: SEARO 0003 and Indonesia 0050, 1968.
2. Handojo RA. Review hasil-hasil penelitian mengenai tuberkulosis paru. Laporan kepada Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Dep. Kes. RI Balai Pemberantasan Penyakit Paru-Paru (BP4) Malang 1978.
3. Gunardi AS. Pemberantasan Penyakit TB paru di Indonesia. Maj Kedokt Indon 1984; 34: 61-65.
4. Handojo I. Uji peroksidase-antiperoksidase (PAP) pada penyakit tuberkulosis paru. Surabaya, Indonesia: Universitas Airlangga, 198. 213 pp. Disertasi.
5. Kardjito T, Handojo I, Grange JM, Mauch H. Elisa sebagai alat pengukur antibodi terhadap antigen Mycobacterium pada tuberkulosis paru. Kumpulan Naskah Ilmiah Konas IAPI ke VIII. 1984.
6. Voller A, Bidwell DE, Barlett A. The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). A guide with abstracts of microplate application. 1st ed. London: Dynatech Europe, Borough House, 1979: 35–38.
7. Tijssen P. Practice and theory of enzyme immunoassay. 1st ed. Amsterdam: Elsevier, 1985 : 88–89 and 393-411.
8. Galens RS. Application of the predictive value model in the analysis of test effectiveness. Clin Lab Med 1982; 2: 685-690.
9. Handojo I. Recent development in the clinical usage of peroxidase-antiperoxidase (PAP) test in pulmonary tuberculosis. Proc Intemat Symp. Update on pulmonary diseases. 1989 : 47-61.
10. Schuurs AHMW, Van Weeman BK. Enzyme Immunoassay (Review). Clin Chem Acta 1977; 81: 1–140.
11. Adimasta MR. Studi perbandingan antara polimer dan non-polimer antigen pada hasil uji imunoperoxidase dalam serodiagnosa penyakit tuberkulosis paru. Skripsi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya 1984.
12. Chaparas SD. Immunity in tuberculosis. Bull WHO 1982; 60(4): 447-462.
13. Nassau E, Merrick AJ. The fluorescent antibody test in human tuberculosis. A pilot study. Tubercle 1970; 51: 430–436.
14. Benyamin RG, Daniel TM. Serodiagnosis of tuberculosis using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of antibody to mycobacterium tuberculosis antigen 5. Am Rev Respir Dis 1982; 126: 1013–1016.
15. Ivanyi J. Pathogenic and protective interactions in mycobacterial infections. Clin Immunol Allerg 1986; 6: 127–157.